

ผลของสภาวะการล้างและการให้ความร้อนต่อสมบัติของเจลปลาอุกบิกอูย (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*)

Effects of Washing and Heating Conditions on Gel Properties of Hybrid Catfish (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*)

จักรินทร์ ตรีอินทอง¹ และ จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร^{2*}

Jukkarin Treeinthong¹ and Jiraporn Runglerdkriangkrai^{2*}

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ จังหวัดกาฬสินธุ์ 46000

² ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

¹ Fishery Technology, Faculty of Agricultural Technology, Kalasin University, Kalasin, 46000

² Department of Fishery Products, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok, 10900

*E-mail: ffsjpr@ku.ac.th โทร. 02-9428644

บทคัดย่อ

ศึกษาสมบัติของเจลปลาอุกบิกอูย (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) ที่สภาวะการล้างน้ำ ได้แก่ 1) เนื้อปลาสดไม่ล้างน้ำ (UW) และ 2) เนื้อปลาสดที่ล้างน้ำ (W) และสภาวะการให้ความร้อน ได้แก่ 1) การให้ความร้อน 1 ระดับ (1-H) ที่ 30 ถึง 90 องศาเซลเซียส โดยเว้นช่วงห่างกันทุก 10 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และ 2) การให้ความร้อน 2 ระดับ (2-H) โดยให้ความร้อน 1-H ที่ 30 ถึง 80 องศาเซลเซียส แล้วจึงให้ความร้อนต่อที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ผลการศึกษาพบว่า เจล W ที่สภาวะ 2-H มีค่า breaking force, breaking distance และ gel strength น้อยกว่าเจล UW แต่มีค่า hardness ความสามารถในการอุ้มน้ำ และความขาวมากกว่า การให้ความร้อนที่สภาวะ 2-H ที่ 50/90-60/90 องศาเซลเซียส ส่งผลให้เจล UW มี gel strength สูงสุด ($p \leq 0.05$) และเกิดการเสื่อมสลายของเจล UW อย่างเห็นได้ชัดที่ 70/90 องศาเซลเซียส ดังนั้นขั้นตอนการล้างเนื้อปลา มีผลต่อการลดลงของความหนาแน่นและความอัดแน่นของโครงข่ายเจลโปรตีน แต่สามารถเพิ่มความแข็ง ความสามารถในการอุ้มน้ำ และความขาวให้กับเจลปลาอุกบิกอูย การให้ความร้อน 2-H ช่วยปรับปรุงสมบัติของเจลได้ดีกว่า 1-H

คำสำคัญ : การเกิดเจล ปลาอุกบิกอูย สภาวะการล้างน้ำ สภาวะการให้ความร้อน

Abstract

Gel properties of hybrid catfish (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) were studied at washing conditions: 1) unwashed (UW) mince and 2) washed (W) mince and heating conditions: 1) one-step heating (1-H) at the range from 30 to 90 °C at 10 °C intervals for 20 min and 2) two-step heating (2-H) at 30 to 80 °C for 20 min and further heating at 90 °C for 20 min. The result showed that W-gels at 2-H had lower breaking force, breaking distance and gel strength but exhibited the higher hardness, water holding capacity and whiteness than those of UW-gels. Two-step heating of UW-gels at 50/90-60/90 °C caused the highest gel strength ($p \leq 0.05$) and the UW-gel degradation was observed at 70/90 °C. Thus, washing step of mince affected the decrease of compactness of protein gel network but could increase the hardness, water holding capacity and whiteness of hybrid catfish gel. Heating at 2-H could improve the gel properties more than that of 1-H.

Keywords : gelation, hybrid catfish, washing condition, heating condition

1. บทนำ

เนื้อสัมผัสที่มีความเหนียวและยืดหยุ่นเป็นสมบัติที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ยืดหยุ่นจากปลา (fish jelly product) เช่น ลูกชิ้นปลา คามาโบโกะ (kamaboko) และไส้กรอกปลา เป็นต้น โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน โดยเกลื้อร้อยละ 2-3 ไปละลายโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ (myofibrillar protein) ทำให้เนื้อปลาที่มีความหนืดมากขึ้น เรียกว่า เพส (paste) (Suzuki, 1981) เมื่อนำเพสไปให้ความร้อน โมเลกุลโปรตีนเกิดการคลายตัว (unfolding) แล้วเกิดการรวมตัวกันอย่างช้า ๆ ด้วยพันธะชนิดต่าง ๆ เกิดเป็นโครงร่างตาข่าย 3 มิติที่สามารถจับน้ำหรือสารอื่น ๆ ที่มีโมเลกุลต่ำไว้ภายใน ได้เจลที่มีความแข็งและยืดหยุ่น ทั้งนี้คุณภาพของเจลโปรตีนขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของโปรตีน สภาวะการให้ความร้อนที่เหมาะสมซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของปลา ความเข้มข้นของโปรตีน ค่าความเป็นกรดต่าง และความแรงไอออน (Sun and Holley, 2010) ปลาน้ำจืดมีความสามารถในการเกิดเจลอยู่ในระดับปานกลาง (Martín-Sánchez *et al.*, 2009) ได้มีการศึกษาเพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนปลาน้ำจืดด้วยวิธีการต่าง ๆ เช่น การใช้ความดัน เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส (Transglutaminase, TGase) สารเติมแต่งอาหาร (Sun and Holley, 2010) รวมถึงการปรับปรุงขั้นตอนการเตรียมเนื้อปลาสดก็มีผลต่อคุณภาพเจลของโปรตีนปลา เช่น สภาวะการล้างเนื้อปลาสด เป็นต้น (Suzuki, 1981)

ปลาตุ๊กบักอูยเป็นปลาลูกผสมระหว่างพ่อพันธุ์ปลาตุ๊กเทศ (*C. gariepinus*) กับแม่พันธุ์ปลาตุ๊กอูย (*C. macrocephalus*) มีเนื้อสีคล้ำและมีไขมันค่อนข้างสูง แต่ให้ปริมาณเนื้อค่อนข้างสูง เจลปลาตุ๊กบักอูยที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 150 นาที และต่อด้วยที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที มีค่าแรงที่ใช้ในการเจาะทะลุ และระยะทางที่หัววัดกดก่อนทะลุสูงสุด (Chomnawang *et al.*, 2008) การให้ความร้อน 1 ระดับ (single heating) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที กับเพสเนื้อปลาตุ๊กอูยเทศที่ล้างน้ำ ทำให้เจลมีความแข็งแรงเจลสูงกว่าเจลปลาที่ล้างน้ำ (Piampreeda, 2001) เจลปลาตุ๊กบักอูยที่ไม่ล้างน้ำมีเนื้อสัมผัสแข็งปานกลางและยืดหยุ่นสูง (Treeinthong *et al.*, 2016) อย่างไรก็ตามการศึกษาลงของสภาวะการล้างและการให้ความร้อนต่อสมบัติของเจลปลาตุ๊กบักอูยยังมีข้อมูลไม่มากนัก ดังนั้นจึงได้ศึกษาสมบัติของเจลปลาตุ๊กบักอูยที่สภาวะการล้างเนื้อปลาสด และการให้ความร้อนที่ช่วงอุณหภูมิต่าง ๆ และ วิธีการให้ความร้อน 1 ระดับ และ 2 ระดับ (double heating) เพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสมกับเนื้อสัมผัสของเจลปลาตุ๊กบักอูย อันจะเป็นข้อมูลสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์ยืดหยุ่นเชิงพาณิชย์และการนำไปใช้ร่วมกับผลิตภัณฑ์ยืดหยุ่นชนิดอื่นต่อไป

2. วิธีการทดลอง

2.1 วัตถุดิบ

ปลาตุ๊กบักอูย ขนาด 300-400 กรัม/ตัว จากตลาดยิ่งเจริญ เขตสะพานใหม่ กรุงเทพฯ ซึ่งเป็นปลาที่มีชีวิตอยู่ และถูกฆ่าทันทีก่อนการนำมาใช้ในการทดลอง และเกลือปนตราปรุ้งทิพย์

2.2 วิธีการ

1) การเตรียมเนื้อปลาสด

นำปลาตุ๊กบักอูยมาตัดหัว ควักไส้ และล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นแลเป็นชิ้นเลือกใช้เฉพาะกล้ามเนื้อขาว แล้วนำไปบดด้วยเครื่องบด (grinder) ที่มีตะแกรงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร และนำเนื้อปลาสดที่ได้เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาสมบัติการเกิดเจลต่อไป

2) ศึกษาผลของสภาวะการล้างเนื้อปลาสดต่อคุณภาพเจลโปรตีนของปลาตุ๊กบักอูย

ศึกษาสมบัติการเกิดเจลของปลาตุ๊กบักอูย โดยเปรียบเทียบสภาวะการล้าง 2 สภาวะ ได้แก่ 1) เนื้อปลาสดไม่ล้างน้ำ (UW) และ 2) เนื้อปลาสดที่ล้างน้ำเย็น 2 ครั้ง (W) โดยใช้สัดส่วนเนื้อปลาสดต่อน้ำเย็นเท่ากับ 1 ต่อ 3 (w/v) นาน 10 นาที พร้อมคนเป็นครั้งคราว นำไปกรองด้วยผ้าขาวบางหนา 4 ชั้นแล้วบีบน้ำออก จากนั้นนำเนื้อปลาสดไปล้างด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 0.3 (w/v) (อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส) นาน 10 นาที แล้วนำไปบีบน้ำออกและเหวี่ยงแยกน้ำ 5 นาที

3) การเตรียมเพลส (paste) โพรตีนปลา

นำเนื้อปลาสดมาเตรียมเพลส โดยนำมาสับผสมกับเกลือร้อยละ 3 (w/w) เป็นระยะเวลา 10 นาที และปรับความชื้นสุดท้ายเป็นร้อยละ 80 ด้วยน้ำแข็งบด ควบคุมอุณหภูมิที่ใช้ระหว่างการบดผสมให้ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส จากนั้นบรรจุเนื้อปลาที่สับผสมกับเกลือแล้วในกระบอกโลหะปลอดสนิมขนาด 25 x 25 มิลลิเมตร² แล้วห่อด้วยแผ่นฟิล์มพลาสติก มัดหัวท้ายให้แน่น นำไปให้ความร้อนเพื่อให้เกิดเจลตามแผนการศึกษาในข้อ 4

4) ศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อคุณภาพเจลโปรตีนของปลาคูกบักกอย

นำเพลสที่ขึ้นรูปแล้วไปให้ความร้อน 2 สภาวะได้แก่ 1) การให้ความร้อนที่ 1 ระดับ (1-H) ที่ช่วงอุณหภูมิ 30-90 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 20 นาที โดยให้ระยะห่างระหว่างอุณหภูมิเป็น 10 องศาเซลเซียส และ 2) การให้ความร้อน 2 ระดับ (2-H) โดยให้ความร้อน 1-H ที่อุณหภูมิ 30-80±1 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที แล้วนำไปให้ความร้อนต่อที่อุณหภูมิ 90±1 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันทีในน้ำเย็นผสมน้ำแข็งนาน 10 นาที วางให้สะเด็ดน้ำ แล้วเก็บใส่กล่องพลาสติก และเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 คืน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ในแต่ละสภาวะการให้ความร้อน

5) การวัดค่าความแข็งแรงเจล (gel strength)

นำเจลปลาออกจากกระบอกโลหะปลอดสนิม นำไปวัดความแข็งแรงเจลด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Stable Micro System TA-HD) โดยใช้หัววัดแบบ spherical 5s ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร กดลงไปในตัวอย่างด้วยความเร็วคงที่ 1.1 มิลลิเมตร/วินาที เป็นระยะทาง 15 มิลลิเมตร วัดค่าของแรงที่ใช้ในการเจาะทะลุ (breaking force) (กรัม) และระยะทางที่หัววัดกดก่อนทะลุ (breaking distance) (มิลลิเมตร) แล้วคำนวณค่าความแข็งแรงเจล (กรัม.เซนติเมตร) จากแรงที่ใช้ในการเจาะทะลุ คูณด้วย ระยะทางที่หัววัดกดก่อนทะลุ ทำ 5 ซ้ำ (ดัดแปลงจากวิธีของ MFRD, 1987)

6) การวัดโครงสร้างทางเนื้อสัมผัส (texture profile analysis; TPA)

นำเจลออกจากกระบอกโลหะปลอดสนิม วัด TPA ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Stable Micro System TA-HD) โดยใช้หัววัดทรงกระบอกที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร กดลงไปในตัวอย่างขนาด 25x25 มิลลิเมตร² เป็นระยะทางร้อยละ 60 ของความสูงในรูปแบบของการกดสองครั้ง (two bite) ด้วยความเร็วคงที่ 2 มิลลิเมตร/วินาที วัดค่าความแข็ง (hardness) ความยืดหยุ่น (springiness) และ ค่าการเกาะตัว (cohesiveness) ทำ 5 ซ้ำ

7) การวัดความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity; WHC)

ตัดตัวอย่างเจลให้มีขนาด 15x15x15 ลูกบาศก์มิลลิเมตร นำตัวอย่างเจลวางระหว่างกระดาษกรอง 2 แผ่น กดด้วยแรงคงที่ 10 กิโลกรัม/เซนติเมตร² นาน 2 นาที ซึ่งน้ำหนักตัวอย่างก่อนกด (W_1) และหลังกด (W_2) วัดร้อยละปริมาณความชื้นของตัวอย่าง (M) คำนวณร้อยละของน้ำที่คงอยู่ในตัวอย่างภายหลังการกดตามสูตร (ดัดแปลงจากวิธีของ Motohiro, 1981) ทำ 3 ซ้ำ

$$WHC (\%) = \frac{(W_1 \times M) - (W_1 - W_2) \times 100}{(W_1 \times M)}$$

8) การวัดความขาว (whiteness)

ตัดตัวอย่างเจลให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร หนา 5 มิลลิเมตร นำไปวัดค่า CIE L* a* b* ด้วยเครื่องวัดสี (Minolta CM-3500d, Japan) แล้วนำไปคำนวณค่าความขาวตามสูตร (Lanier, 1992) ทำ 5 ซ้ำ

$$Whiteness = 100 - [(100-L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{0.5}$$

9) การทดสอบการพับ (folding test)

ตัดตัวอย่างเจลให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร หนา 5 มิลลิเมตร แล้วนำไปทดสอบการพับ ให้คะแนนการพับโดยคะแนน AA เป็นคะแนนสูงสุดคือ ไม่มีรอยแตกเมื่อพับ 4 ส่วน และคะแนนต่ำสุดคือ D มีรอยแตกและแยกออกจากกันเมื่อพับเป็น 2 ส่วน (MFRD, 1987) ทำ 5 ซ้ำ

10) การตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนด้วยวิธี gel electrophoresis โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Weber and Osborn (1969) และ Laemmli (1970)

นำตัวอย่างเจลโปรตีน 0.25 กรัม ใส่ในขวดสีชาแล้วเติม solubilized solution (8 M urea-2% SDS-0.05 M sodium phosphate (pH 6.8)) 9 ml และ mercaptoethanol 1 ml แล้วย่อยจนได้สารละลายใส จากนั้นนำไปทำ SDS-PAGE โดยใช้ stacking gel 4% acrylamide และ separating gel 7.5% acrylamide

11) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

จัดการทดลองแบบ factorial in completely randomized design (CRD) โดยปัจจัย A คือ สภาวะการล้างเนื้อปลาสด และปัจจัย B คืออุณหภูมิของแต่ละสภาวะการให้ความร้อน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA (analysis of variance) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

3.1 ผลของสภาวะการล้างและการให้ความร้อนต่อสมบัติด้านเนื้อสัมผัสของเจลโปรตีนปลาตุ๋น

สภาวะการล้างเนื้อปลาสดและการให้ความร้อนที่ 1-H มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ต่อค่าแรงที่ใช้ในการเจาะทะลุ ระยะทางที่หัววัดกดก่อนทะลุ ค่าความแข็งแรงเจล ค่าความแข็ง และความยืดหยุ่น ขณะที่สภาวะการล้างและการให้ความร้อนที่ 2-H มีอิทธิพลร่วมกันต่อค่าแรงที่ใช้ในการเจาะทะลุ ระยะทางที่หัววัดกดก่อนทะลุ และค่าความแข็งแรงเจลเท่านั้น

การให้ความร้อน 1-H ที่ 30-40 องศาเซลเซียส ทำให้เนื้อปลาตุ๋นบักอู๋ไม่สามารถเกิดเป็นเจลได้ แสดงถึงพลังงานไม่เพียงพอในการทำให้เกิดการคลายเกลียวของโปรตีน สมบัติด้านเนื้อสัมผัสของเจลเป็นผลมาจากการแข่งขันกันระหว่างปฏิกิริยาที่เหนียวทำให้เกิดพอลิเมอร์ซึ่งส่งเสริมความแข็งแรงเจล และปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนซึ่งทำให้ความแข็งแรงเจล ลดลง เนื้อปลาตุ๋นบักอู๋เริ่มเกิดเจลได้ที่ 50 องศาเซลเซียส (Figure 1) จากนั้นค่าแรงที่ใช้ในการเจาะทะลุ และความแข็งแรงเจลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยที่ 60-90 องศาเซลเซียส เจลกลุ่ม UW ส่วนใหญ่ที่สภาวะ 1-H มีค่าแรงที่ใช้ในการเจาะทะลุ ระยะทางที่หัววัดกดก่อนทะลุ และค่าความแข็งแรงเจลไม่แตกต่างจากเจลกลุ่ม W (ภาพที่ 1A 2A และ 3A) ยกเว้นค่าระยะทางที่หัววัดกดก่อนทะลุ และค่าความแข็งแรงเจลที่ 50 และ 90 องศาเซลเซียสของเจลกลุ่ม UW ที่มีค่ามากกว่าเจลกลุ่ม W อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามค่าระยะทางที่หัววัดกดก่อนทะลุ และค่าความแข็งแรงเจลของ UW และ W เจลมีค่าลดลงหลังจากค่าสูงสุดในช่วงแรกคือที่ 60 และ 70 องศาเซลเซียสตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นเพราะมีชนิดเอนไซม์โปรตีนเอสที่แตกต่างกันจึงทำงานได้ดีที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

การให้ความร้อน 2-H เจลเนื้อปลา UW มีค่าแรงที่ใช้ในการเจาะทะลุ ระยะทางที่หัววัดกดก่อนทะลุ และความแข็งแรงเจล (เฉพาะที่ 50/90, 60/90 และ 80/90 องศาเซลเซียส) สูงกว่าเจลเนื้อปลา W (ภาพที่ 1B 2B และ 3B) โดยเจล UW มีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่องจาก 40/90 จนมีค่าสูงสุดที่ 50/90 และ 60/90 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีค่า 410.17-413.90 กรัม, 11.29-11.69 มิลลิเมตร และ 467.97-479.65 กรัม.เซนติเมตร ตามลำดับ จากนั้นมีค่าลดลงที่ 70/90 องศาเซลเซียส และมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยอีกครั้งเมื่อให้ความร้อนที่ 80/90 องศาเซลเซียส ทั้งนี้พารามิเตอร์ดังกล่าวที่มีค่าสูงสุดที่ 50/90 และ 60/90 องศาเซลเซียส อาจเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์ TGase ในเนื้อปลาทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิดังกล่าว และการลดลงของสมบัติด้านเนื้อสัมผัสของเจล UW ที่ 70/90 องศาเซลเซียส อาจเกิดจากการสลายตัวของเจล (degradation) ที่มีสาเหตุมาจากเอนไซม์ sarcoplasmic type proteinase ซึ่งว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ณ อุณหภูมินี้ สอดคล้องกับการศึกษาในเจลปลาปากคมไม่ล้างน้ำชนิด tokageeso และ maeso ที่เกิดการเสื่อมสลายของเจลที่อุณหภูมิดังกล่าวเช่นกัน (Suwansakornkul *et al.*, 1993) และในปลาหลายชนิด เช่น ปลาไน (Osatomi *et al.*, 1997) และปลา crucian carp (Cao *et al.*, 2006) นอกจากนี้ในช่วงอุณหภูมิสูงที่ 80/90 องศาเซลเซียส ความแข็งแรงของเจลที่เพิ่มขึ้นอีกครั้งอาจเกิดจากพันธะไดซัลไฟด์และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อให้ความร้อนสูงทำให้เจลที่ได้มีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น

การให้ความร้อน 2-H กับเนื้อปลาสด W เจลมีค่าเนื้อสัมผัสสูงสุดที่ 40/90 และ 50/90 องศาเซลเซียส และมี

ค่าลดลงที่ 60/90 องศาเซลเซียสเป็นต้นไป แสดงว่าการล้างมีผลต่อการลดลงของความหนาแน่นและความอัดแน่น (compactness) ของโครงข่ายเจลโปรตีนซึ่งค่าเหล่านี้สามารถตรวจสอบได้ด้วยวิธีการวัดแบบเจาะทะลุ (Lee and Chung, 1989) การลดลงดังกล่าวอาจเกิดจากเอนไซม์ในกลุ่ม myofibrillar type proteinase ที่ไม่ถูกขจัดออกไประหว่างการล้างน้ำและทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส ขึ้นกับชนิดของปลา โดยปกติแล้วการล้างเนื้อปลาคจะช่วยกำจัดโปรตีนสารโคพลาสติกซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์โปรตีนสที่ละลายน้ำได้ แต่ในขณะเดียวกันก็จะทำให้โปรตีนสที่จับอยู่กับโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ไม่ถูกขจัดออกไปด้วยการล้างน้ำมีความเข้มข้นขึ้น จึงอาจส่งผลให้เจลมีสมบัติด้านเนื้อสัมผัสดีกว่าเจลกลุ่ม UW (Suwansakornkul *et al.*, 1993) สภาวะที่เจลปลาคูกักกักอยู่มีค่าความแข็งแรงเจลสูงสุดคือ เจลปลาคูกักกักที่ได้จากเนื้อปลาคูกัดที่ไม่ล้างน้ำและให้ความร้อน 2 ระดับที่ 50/90 องศาเซลเซียส (479.65 ± 22.54 กรัม.เซนติเมตร) และ 60/90 องศาเซลเซียส (467.97 ± 46.55 กรัม.เซนติเมตร)

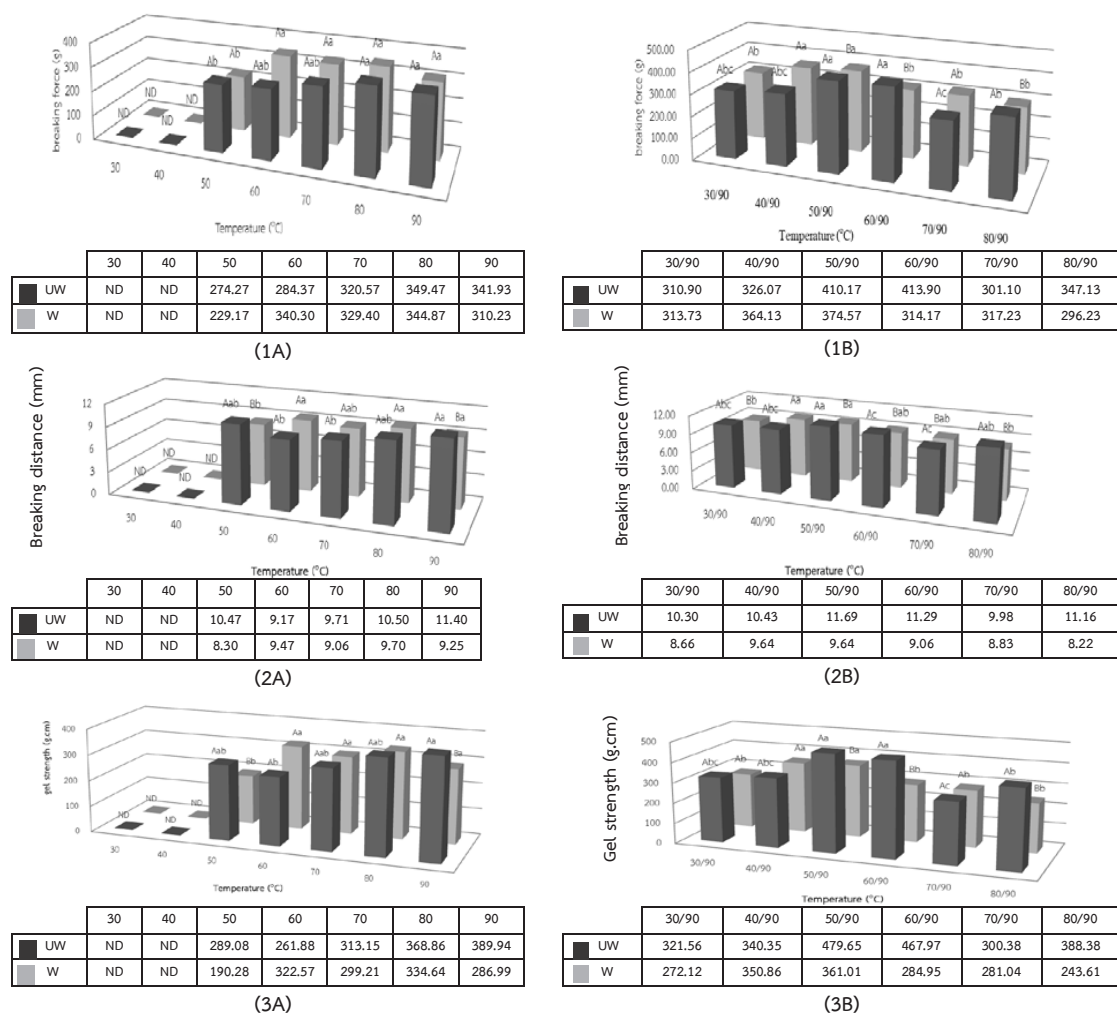
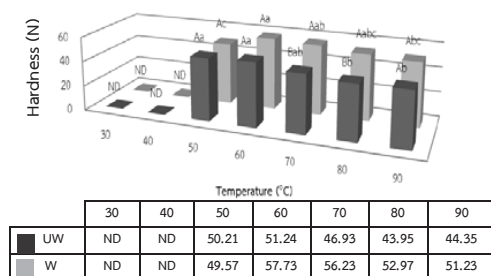


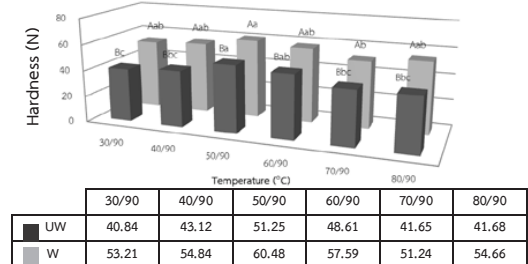
Figure 1 Textural properties of hybrid catfish gels at various washing and heating conditions. One-step heating (1A, 2A, 3A), two-step heating (1B, 2B, 3B) UW: Unwashed-gel, W: Washed-gel, ND: Not detected, ^{A-B} Different letters on each bar of washing condition indicate the significant difference ($p \leq 0.05$).

^{a-c} Different letters on each bar of heating condition indicate the significant difference ($p \leq 0.05$).

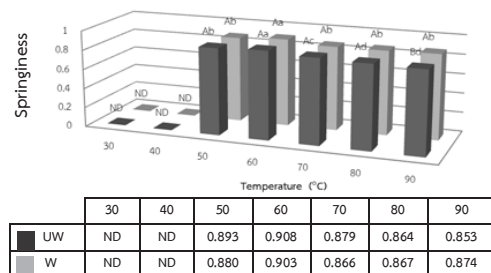
ผลการวิเคราะห์ TPA (Figure 2) พบว่า ที่ความร้อน 1-H เจล W มีค่าความแข็ง (ที่ 70 และ 80 องศาเซลเซียส) ความยืดหยุ่น (ที่ 90 องศาเซลเซียส) สูงกว่าเจล UW อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่มีค่าการเกาะตัวไม่แตกต่างกัน ขณะที่ความร้อน 2-H ทำให้เจล W มีค่าความแข็งมากกว่าเจล UW อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่มีค่าความยืดหยุ่นและค่าการเกาะตัวไม่แตกต่างกัน แสดงว่า สภาวะการล้างเนื้อปลาสดและสภาวะในการให้ความร้อนแบบ 2-H มีอิทธิพลร่วมกันต่อการเพิ่มขึ้นของค่าความแข็งของเจลกลุ่ม W โดยการล้างช่วยกำจัดโปรตีนซาร์โคพลาสมิกและสารประกอบที่ละลายน้ำออกจากเนื้อปลาดุก ทำให้โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์เข้มข้นขึ้น ประกอบกับมีเอนไซม์ TGase ที่เหลืออยู่บ้างหลังจากการล้าง เมื่อให้ความร้อน 2-H จึงทำให้โปรตีนเกิดการจับเรียงตัวในขั้นตอนการเซตตัวได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งค่าความแข็งของเจล W มากกว่า UW มีผลไปคนละทิศทางการกับค่าความแข็งแรงเจล เนื่องจาก TPA เป็นวิธีการทดสอบที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบการเกาะตัวของเจล ขณะที่วิธีเจาะทะลุเหมาะสำหรับการตรวจความหนาแน่นและอัดแน่นของโครงข่ายเจล ซึ่งเป็นผลจากการรวมกลุ่มของโปรตีน (Lee and Chung, 1989)



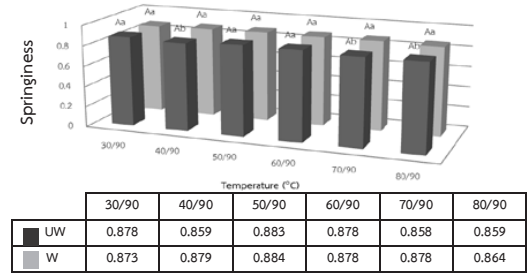
(1A)



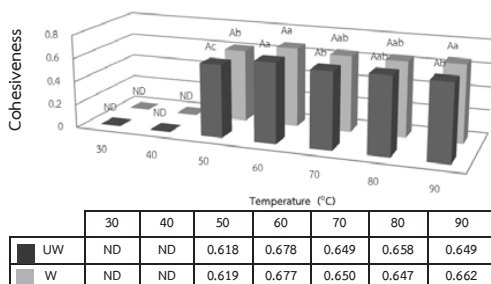
(1B)



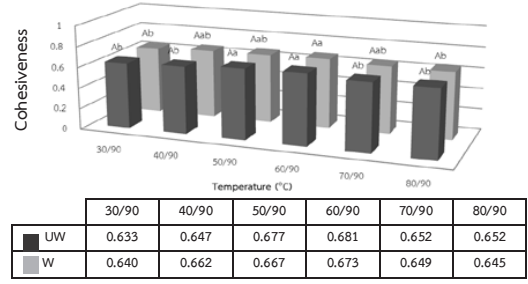
(2A)



(2B)



(3A)



(3B)

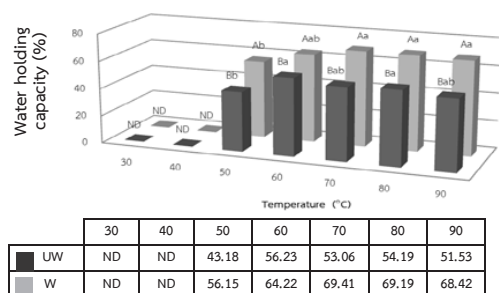
Figure 2 Texture profile analysis of hybrid catfish gels at various washing and heating conditions. One-step heating (1A 2A and 3A), Double-step heating (1B 2B and 3B) UW: Unwashed-gel, W: Washed-gel, ND: Not detected,

^{A-B} Different letters on each bar of washing condition indicate the significant difference ($p < 0.05$). ^{a-c} Different letters on each bar of heating condition indicate the significant difference ($p < 0.05$).

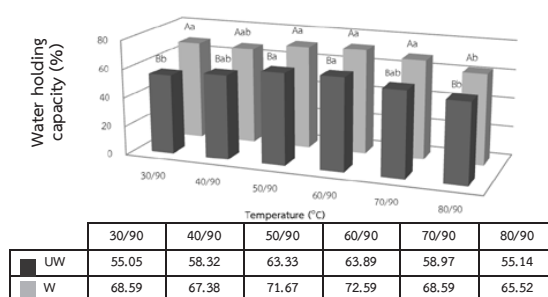
3.2 ความสามารถในการอุ้มน้ำ ความขาว และการทดสอบการพับ

สภาวะการล้างเนื้อปลาสดและระดับการให้ความร้อนไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ และค่าความขาว แต่เมื่อพิจารณาปัจจัยหลักพบว่า การล้างน้ำมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ และค่าความขาวของเจลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (Figure 3) การล้างเนื้อปลาสดช่วยกำจัดโปรตีนซาร์โคพลาสมิกและรงควัตถุออกไปจึงทำให้เจลมีความขาวเพิ่มขึ้น ในขณะที่เดียวกันก็ทำให้โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์เข้มข้นขึ้นส่งผลให้เจลมีโครงสร้างที่แข็งแรงขึ้นจึงสามารถกักเก็บน้ำไว้ในโครงสร้างได้ดีกว่าเจลกลุ่ม UW

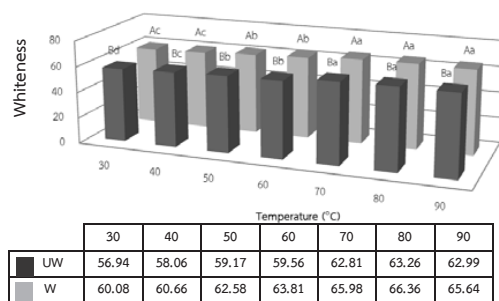
การให้ความร้อนแบบ 1-H เจลปลาตุ๋นบักอูยทั้งกลุ่ม UW และ W มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำสูงสุดที่ 60-90 องศาเซลเซียสและความขาวสูงสุดที่ 70-90 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สำหรับการให้ความร้อนแบบ 2-H พบว่า เจลกลุ่ม W มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำไม่แตกต่างกันเมื่อให้ความร้อนที่ 30/90-70/90 องศาเซลเซียส และเจลกลุ่ม UW มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำสูงสุดที่ 40/90-70/90 องศาเซลเซียส โดยมีค่าร้อยละ 58.32-63.89 อย่างไรก็ตามที่สภาวะการล้างทั้งสอง การให้ความร้อนแบบ 2-H ที่ทุกระดับอุณหภูมิไม่มีอิทธิพลต่อค่าความขาวของเจลปลาตุ๋นบักอูย เมื่อพิจารณาค่าทดสอบการพับพบว่า เจลปลาตุ๋นบักอูยทุกตัวอย่างมีค่าการทดสอบการพับเป็น AA คือไม่มียอยแตกเมื่อพับเป็น 4 ส่วน (ยกเว้นเจล W ที่ได้จากการให้ความร้อน 1-H ที่ 50 องศาเซลเซียส ที่มีค่าทดสอบคือ A ซึ่งการทดสอบการพับเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการแยกเจลโปรตีนคุณภาพสูงจากคุณภาพต่ำ แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างคุณภาพของโปรตีนที่มีความสามารถในการเกิดเจลที่ดีได้ (Lanier, 1992)



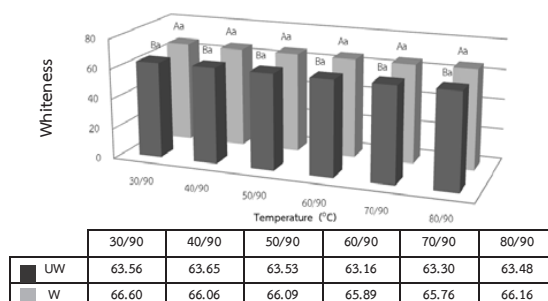
(1A)



(1B)



(2A)



(2B)

Figure 3 Water holding capacity and whiteness of hybrid catfish gels at various washing and heating conditions. One-step heating (1A and 2A), Double-step heating (1B and 2B) UW: Unwashed-gel, W: Washed-gel, ND: Not detected,

^{A-B} Different letters on each bar of washing condition indicate the significant difference ($p \leq 0.05$). ^{a-b} Different letters on each bar of heating condition indicate the significant difference ($p \leq 0.05$)

3.3 SDS-PAGE

ผลการวิเคราะห์ SDS-PAGE (Figure 4) พบว่า เจล UW ที่สภาวะ 1-H มีความเข้มข้นของแถบ myosin heavy chain (MHC) ที่ 30-50 องศาเซลเซียส บางกว่าเจลที่ 60-90 องศาเซลเซียส ซึ่งสังเกตเห็นการลดลงมากที่สุดที่ 50 องศาเซลเซียสและพบแถบ cross-linked protein (CP) ที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ผ่าน stacking gel ได้ในทุกตัวอย่าง ขณะที่แถบ actin (AC) ของทุกตัวอย่างยังคงมีความเข้มข้นใกล้เคียงกันซึ่งอาจเกิดขึ้นเนื่องจาก TGase ไปทำให้ MHC สร้างพันธะไโซเปปไทด์เกิดเป็นโพลิเมอร์ที่มีโมเลกุลใหญ่ขึ้นจึงสังเกตเห็นการลดลงของ MHC ขณะที่เจลกลุ่ม W ที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส มีความเข้มข้นของแถบ MHC บางกว่าที่อุณหภูมิอื่น แสดงว่า TGase ที่หลงเหลือจากการล้างน้ำช่วยส่งเสริมการสร้างพันธะซึ่งสอดคล้องกับค่าความแข็งแรงเจลของ W ที่สภาวะ 1-H มีค่าสูงที่ 60 องศาเซลเซียส

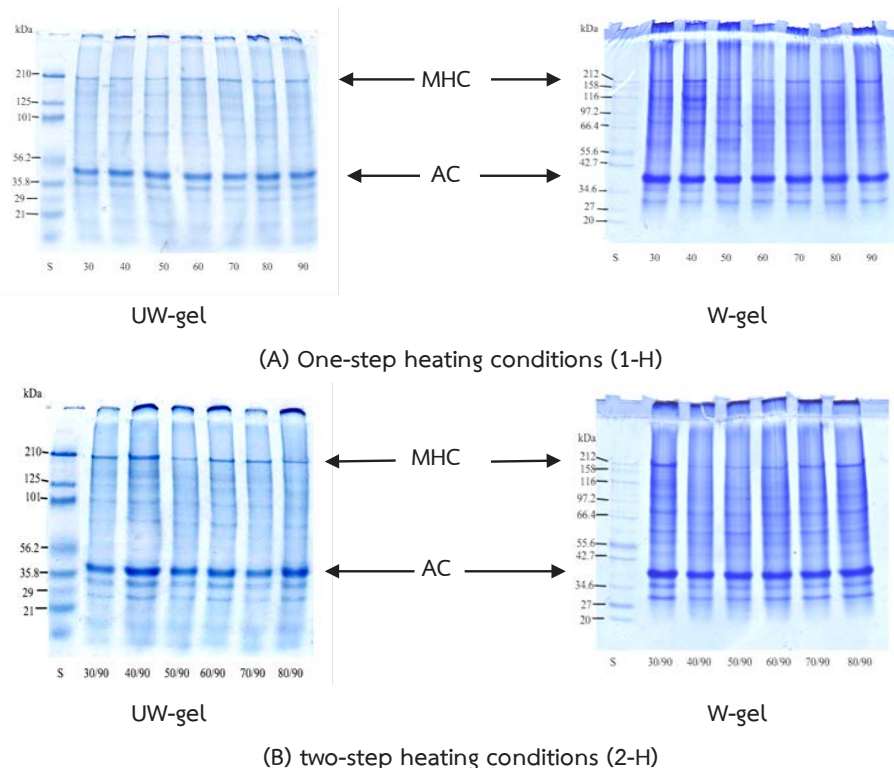


Figure 4 SDS-PAGE patterns of protein gels; (A) One-step heating conditions, (B) Double-step heating conditions, S (Standard protein), MHC (myosin heavy chain), AC (actin)

สำหรับการให้ความร้อน 2-H พบว่า เจล UW ที่ 50/90 องศาเซลเซียส มีความเข้มข้นของแถบ MHC บางอย่างเห็นได้ชัด แต่มีแถบโปรตีนที่แสดงถึงการเสื่อมสลายของเจลด้อยมาก ดังนั้นอาจเกิดจากการทำงานของ TGase ซึ่งสอดคล้องกับค่าสมบัติทางเนื้อสัมผัสที่มีค่าสูงที่สุดที่อุณหภูมินี้ ส่วนเจล W ความเข้มข้นของแถบ MHC ส่วนใหญ่ลดลง แต่มีความเข้มข้นของแถบโปรตีนที่อยู่ภายใต้ MHC มากขึ้น ตั้งแต่ช่วง 60/90 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจแสดงว่า การล้างช่วยเสริมผลของ myofibrillar type proteinase ในการย่อยสลายโปรตีนซึ่งสอดคล้องกับค่าแรงที่ใช้ในการเจาะทะลุ ระยะทางที่หัววัดกดก่อนทะลุ และค่าความแข็งแรงเจลของเจลกลุ่ม W ที่ลดลงช่วง 60/90 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามเจล W ที่อุณหภูมิ 40/90 องศาเซลเซียส มีค่าสมบัติด้านเนื้อสัมผัสเหล่านี้ไม่แตกต่างจากเจลกลุ่ม UW ดังนั้นการลดลงของความเข้มข้นของแถบ MHC จึงไม่น่าจะเป็นผลของเอนไซม์โปรตีเนส แต่น่าจะเป็นผลของ TGase เนื่องจากพบแถบ CP บน stacking gel สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ในปลานวลจันทร์น้ำจืดว่า การล้างไม่สามารถกำจัด TGase ออกได้ทั้งหมด

จึงทำให้เอนไซม์หลงเหลืออยู่และอาจมีเอนไซม์ TGase บางส่วนที่ยึดติดกับส่วนกล้ามเนื้อ ทำให้โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ และ TGase ที่ยึดติดกับกล้ามเนื้อปลาเข้มข้นมากขึ้น (Yongsawatdigul *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตามผล SDS-PAGE จากทั้งสองสภาวะการให้ความร้อนพบแถบ CP ที่ไม่สามารถเคลื่อนผ่าน stacking gel ทุกตัวอย่างซึ่งแถบที่เกิดขึ้นนี้อาจแสดงถึงความว่องไวต่อการเกิดการรวมกลุ่มของโปรตีน (aggregation) ปลาตุ๋นก็กัวยระหว่างการเก็บและการเตรียมเนื้อปลาตุ๋นก็กัวย (Chaijan *et al.*, 2010) หรืออาจเป็น scaffold proteins ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลสูง (Yongsawatdigul *et al.*, 2006) ขณะที่แถบ CP ที่พบในเจลช่วงอุณหภูมิ 40/90-50/90 องศาเซลเซียส อาจเป็นผลระหว่าง TGase และการเกิดการรวมกลุ่มของโปรตีนร่วมกัน

4. สรุป

การล้างเนื้อปลามีผลทำให้เจลปลาตุ๋นก็กัวยมีแนวโน้มของค่าแรงที่ใช้ในการเจาะทะลุ ระยะทางที่หัววัดกดก่อนทะลุ และค่าความแข็งแรงเจลลดลง เนื่องจากการลดลงของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสและการส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่ม myofibrillar proteinase แต่มีค่า hardness ความขาว และความสามารถในการอุ้มน้ำเพิ่มขึ้น การให้ความร้อนแบบ 2-H มีแนวโน้มช่วยเพิ่มค่าสมบัติด้านเนื้อสัมผัสเมื่อเทียบกับสภาวะ 1-H ซึ่งเจล UW ที่อุณหภูมิ 50/90 องศาเซลเซียส มีค่าความแข็งแรงเจลสูงที่สุด ขณะที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส ส่งเสริมการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์โปรตีนเนส

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์วิทยการขั้นสูงเพื่อเกษตรและอาหาร (CASAF) สถาบันวิทยการขั้นสูงแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

- Cao, M.-J., Jiang, X.-J., Zhong, H.-C., Zhang, Z.-J. and W.-J. Su. 2006. Degradation of myofibrillar proteins by a myofibril-bound serine proteinase in the skeletal muscle of crucian carp (*Carasius auratus*). Food Chem. 94: 7-13.
- Chaijan, M., Panpipat, W. and S. Benjakul. 2010. Physicochemical properties and gel-forming ability of surimi from three species of mackerel caught in Southern Thailand. Food Chem. 121: 85-92.
- Chomnawang, C., Nantachai, K., Yongsawatdigul, J. and S. Thawornchinsombut. 2008. Hybrid catfish gel formation and its textural properties. RMUTI Journal. 1(1): 6-26.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. Nature. 227: 680-685.
- Lanier, T.C. 1992. Measurement of surimi composition and functional properties, pp. 123 - 163. In T.C. Lanier and C.M. Lee, eds. **Surimi Technology**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Lee, C.M. and K.H. Chung. 1989. Analysis of surimi gel properties by compression and penetration test. J. Texture Studies. 20: 363-377.9(2): 1-12.
- Martín-Sánchez, A.M., Navarro, C., Pérez-Álvarez, J.A. and V. Kuri. 2009. Alternative for efficient and sustainable production of surimi: A review. Compr. Rev. Food Sci. F. 8: 359-374.
- MFRD (Marine Fisheries Research Department). 1987. **Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Products**. SEAFDEC, Singapore.

- Motohiro, T. 1981. General aspect of processing marine food. In T. Motohiro., H. Kadota., K. Hashimoto., M. Kayama and T. Tokunaga, eds. **Science of Processing Marine Food Products vol. II**. Kanagawa International Fisheries Training Center. Japan International Cooperation Agency, Japan.
- Osatomi, K., Sasai, H., Cao, M.J., Hara, K. and T. Ishihara. 1997. **Purification and characterization of myofibril-bound serine proteinase from carp *Cyprinus carpio* ordinary muscle**. Comp. Biochem. Phys. B. 116: 183-190.
- Piampreeda, O. 2001. **Production of Fish Ball from Two Kinds of Fish**. MS.D. Thesis. Department of Fishery Products, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Sun, X.D. and R.A. Holley. 2010. **Factors influencing gel formation by myofibrillar proteins in muscle foods. A review**. Compr. Rev. Food Sci. F. 10: 33-51.
- Suwansakornkul, P., Itoh, Y., Hara, S. and A. Obatake. 1993. **The gel-forming characteristics of lizardfish**. Nippon Suisan Gakk. 59 (6): 1029-1037.
- Suzuki, T. 1981. **Fish and Krill Protein Processing Technology**. Applied Science Publ, London.
- Treeinthong, J., Ruksakulthai, N. and J. Runglerdkriangkrai. 2016. **Influence of carrageenan extracted from *Solieria robusta* on gel properties of freshwater fish gel**. RMUTTO Res. J. 9(2): 1-12. (in Thai)
- Weber, K. and M. Osborn. 1969. **The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis**. J. Bio Chem. 244: 4406-4412.
- Yongsawatdigul, J., Piyadhamviboon, P. and K. Singchan. 2006. **Gel-forming ability of small scale mud carp (*Cirrhina microlepis*) unwashed and washed mince as related to endogenous proteinases and transglutaminase activities**. Eur. Food Res. Technol. 223: 769-774.

(Received: 20/May/2019, Revised: 24/May/2020, Accepted: 31/May/2020)